

---

*Cryptococcus neoformans* var. *gattii*

---

**ISOLADOS EM PACIENTES COM AIDS NO ESTADO  
DE GOIÁS**

---

Orionalda de Fatima Lisboa Fernandes,<sup>1</sup> Maria do Rosário Rodrigues Silva,<sup>1</sup>  
Evandro Leão Ribeiro,<sup>1</sup> Márcio Rodrigues Costa,<sup>2</sup> Théo Rodrigues Costa,<sup>2</sup>  
Marcelo Vieira da Silva,<sup>2</sup> Adriana Batista Rodrigues<sup>2</sup> e Hugo Miguel  
Quirino<sup>2</sup>

RESUMO

A criptococose é uma das importantes complicações nos indivíduos com AIDS. Nestes pacientes tem predominado como agente etiológico *C. neoformans* var. *neoformans* e muito raramente relata-se *C. neoformans* var. *gattii*, mesmo nas regiões onde se verifica a sua prevalência. O líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com AIDS foram submetidos ao exame direto com tinta nanquim, cultura em ágar Sabouraud dextrose e em ágar *Guizotia abyssinica* mantidos à temperatura ambiente e à temperatura de 37°C, identificando-se *Cryptococcus neoformans* pelas suas características macro e microscópicas. O meio L-canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB) foi utilizado para diferenciar as variedades, sendo identificados 42 *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* e 3 *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. O trabalho relata a meningite criptocócica causada por *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii* em pacientes com AIDS.

UNITERMOS: *C. neoformans* var. *neoformans*. *C. neoformans* var. *gattii*.  
líquor. AIDS.

INTRODUÇÃO

A criptococose é uma micose cosmopolita que vem assumindo um papel relevante, por ser considerada uma infecção oportunista muito freqüente nos indivíduos com AIDS. O agente etiológico *C. neoformans* é

---

1 Professores do Departamento de Microbiologia, Imunologia, Patologia e Parasitologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás.

2 Alunos de Graduação- UFG

Endereço para correspondência: Rua Delenda Rezende de Melo eq. com 1ª Avenida, Setor Universitário. Caixa Postal 131, CEP 74605-050, Goiânia, GO.

uma levedura encapsulada com tendência a produzir infecções no SNC, particularmente em pacientes imunocomprometidos (9, 17).

São conhecidas duas variedades agentes de criptococose: *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii*. Importantes estudos epidemiológicos têm demonstrado diferenças geográficas na distribuição destas variedades. O predomínio de *C. neoformans* var. *neoformans* tem sido relatado na França, Itália e Bélgica, enquanto a var. *gattii* mostra maior prevalência em regiões de climas tropicais e subtropicais (8, 1, 13).

Tem sido observado que, em pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Humana, o isolamento de *C. neoformans* var. *neoformans* é predominante, mesmo (11) em regiões tropicais e subtropicais (11).

O relato de meningite criptocócica por *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii* em pacientes com AIDS constitui o objetivo deste trabalho.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1-Pacientes e isolados

Líquido cefalorraquidiano (LCR) de 45 pacientes com AIDS atendidos no Hospital de Doenças Tropicais (HDT) de Goiânia foram estudados. Dados epidemiológicos como idade, sexo, procedência e provável fonte de infecção com o vírus HIV foram relatados.

### 2-Identificação de *Cryptococcus neoformans*

Após a observação microscópica do exame direto com tinta nanquim, as amostras foram cultivadas em ágar Sabouraud Dextrose e mantidas a 28°C e 37°C. Colônias sugestivas de *C. neoformans* foram repicadas em meios contendo substratos fenólicos (*Guizotia abyssinica*) (14) e em meio de Christensen (peptona, glicose, cloreto de sódio, fosfato de potássio monobásico, fenol vermelho, ágar) (2) para detectar a atividade da fenoxidase e da urease, respectivamente.

### 3 -Determinação das variedades

As variedades foram determinadas com base nas características de reação das cores no meio de L-canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB), proposto por Kwon-Chung (1982) (7).

## RESULTADOS

Das 45 amostras de *C. neoformans*, 42 (93,3%) foram identificadas como *C. neoformans* var. *neoformans* e 3 (6,7%), como *C. neoformans* var.

*gattii*, através do seu crescimento e modificação da cor do meio CGB. A var. *gattii* transforma a cor do meio para azul cobalto (Figura 1).

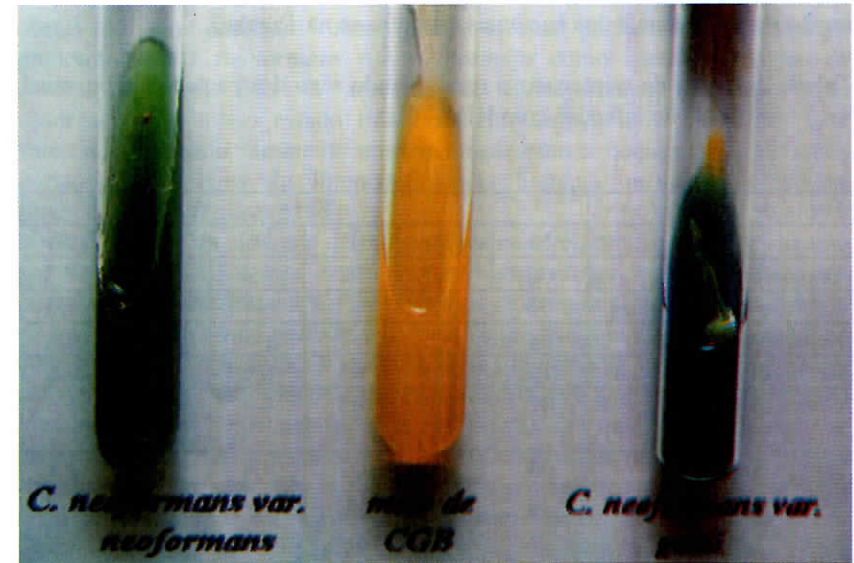


Figura 1. Variedades de *Cryptococcus neoformans* identificadas através do meio CGB

A faixa etária dos pacientes foi de 20 a 60 anos, com maior número de casos entre 20 e 30 anos (60,1%). Houve predominância do sexo masculino sobre o feminino em 80% dos casos (Tabela 1).

Tabela 1. Casos de criptococose relacionados com a idade e sexo dos pacientes

Idade	Sexo				Total	(%)
	M	(%)	F	(%)		
20-30	22	48,8	05	11,1	27	60,1
31-40	08	17,7	03	6,6	11	24,4
41-50	05	11,1	-	-	05	11,1
> 50	01	2,2	01	2,2	02	4,4
Total	36	80,0	09	20,0	45	100,0



Os dados computados em relação à fonte de infecção para HIV mostraram que os heterossexuais são os mais acometidos nos casos de criptococose (Tabela 2). A correlação dos agentes etiológicos isolados com a região de procedência dos pacientes encontra-se na Tabela 3.

Tabela 2. Casos de criptococose relacionando sexo dos pacientes e provável fonte de infecção com HIV

Fonte de infecção	Sexo					
	M	(%)	F	(%)	Total	(%)
Uso de drogas	06	13,3	02	4,4	08	17,7
Relação homossexual	07	15,5	-	-	07	15,5
Relação bissexual	04	8,8	-	-	04	8,8
Relação heterossexual	15	33,3	03	6,6	18	40,3
Contato com sangue ou derivados	01	2,2	02	4,4	03	6,6
Não esclarecido	03	6,6	02	4,4	05	11,1
Total	36	80,0	09	20,0	45	100,0

Tabela 3. *Cryptococcus neoformans* isolados e procedência dos pacientes

Procedência	<i>C. neoformans</i> <i>var. neoformans</i>		<i>C. neoformans</i> <i>var. gattii</i>	
	n	%	n	%
Goiânia	22	48,9	-	-
Minas Gerais	02	4,4	-	-
Pará	02	4,4	-	-
São Paulo	01	2,2	-	-
Tocantins	03	6,7	-	-
Interior Est. de Goiás				
Aparecida de Goiânia	02	4,4	01	2,2
Anápolis	02	4,4	-	-
Ceres	01	2,2	-	-
Catalão	01	2,2	-	-
Joviânia	02	4,4	-	-
Piracanjuba	01	2,2	-	-
Rio Verde	03	6,7	-	-
Uruaçu	-	-	02	4,4
Total	42	93,3	03	6,7

## DISCUSSÃO

A meningite criptocócica é um processo infeccioso freqüentemente observado em pacientes com AIDS. Nestes pacientes verifica-se o predomínio de *C. neoformans* *var. neoformans* como agente etiológico da doença (6,12,16). Das 45 amostras de *C. neoformans* isoladas, foram observados em nosso estudo três casos de *C. neoformans* *var. gattii*. Esta variedade tem sido raramente correlacionada com a doença em indivíduos portadores do vírus da imunodeficiência humana, mesmo em regiões consideradas endêmicas (13).

Apesar da ausência de informações com relação à análise de sexo na população de AIDS em nossa região, observamos que, em casos de criptococose, a ocorrência nos pacientes do sexo masculino foi mais elevada do que no feminino no período e na população determinada. O percentual de 80% dos casos nos homens revela esta predominância de criptococose no sexo masculino, concordando com as observações de Dupont et al. (1992) (3) e com relatos de Horsburg & Selik (1988) (5), em que estes sugerem que pacientes com AIDS do sexo masculino apresentam maior risco para a criptococose do que os do sexo feminino. Segundo Rozembaum et al. (1992) (13), a distribuição do sexo parece estar relacionada à variedade de *Cryptococcus neoformans*, observando que, em 14 casos de criptococose causada por *C. neoformans* *var. gattii*, 11 pertenciam a pacientes do sexo masculino. Os três isolados de *C. neoformans* *var. gattii* observados no nosso estudo foram de pacientes do sexo masculino.

O número elevado de heterossexuais com AIDS acometidos de criptococose do SNC (40,3%) mostra que os fatores considerados de risco (relação homossexual - usuário de drogas) para contrair o vírus da imunodeficiência humana da década de 80 sofreram alterações. Tal fato pode estar relacionado com os achados de Dupont et al. (1992) (3) que observaram uma acentuada transmissão de HIV entre heterossexuais na África.

A idade adulta entre 20 e 30 anos apresentou-se com 60,1% dos casos de criptococose nos pacientes estudados. Entre crianças com AIDS a criptococose é menos freqüente, com relato apenas de 1% dos casos (10). Durante o período do nosso estudo não houve relato de caso de criptococose infantil nesta população.

A exposição ao agente etiológico pode explicar os três casos de *C. neoformans* *var. gattii*. Os pacientes em que se verificou esta etiologia eram procedentes do interior do Estado de Goiás, que tem como maior fonte de trabalho a agricultura. O hábitat natural deste agente é provavelmente de origem vegetal e tem sido correlacionado com *Eucalyptus camaldulensis* (4), enquanto *C. neoformans* *var. neoformans* encontra-se em zonas urbanas. A associação de criptococose decorrente do contato com fezes de pombos representa um fator de risco para adquirir a doença (15).



Apesar do grande número de isolados de *C. neoformans* var. *neoformans*, o encontro de *C. neoformans* var. *gattii* em três casos notifica que ambos os agentes podem ser responsáveis por criptococose do SNC, mesmo nos pacientes imunocomprometidos.

## SUMMARY

*Cryptococcus neoformans* var. *gattii* isolated from patients with AIDS in Goiás state

We report the findings of cryptococcus meningitis caused by *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in patients with AIDS. The cryptococcus infection is one of the most important complications in AIDS patients. *C. neoformans* var. *neoformans* is predominant in this population, with rare findings of *C. neoformans* var. *gattii*. Cerebrospinal fluid was obtained from AIDS patients and submitted to direct examination with squid ink, and cultured in dextrose Sabouraud and Guizotia abyssinica agar at 37°C and at room temperature. *C. neoformans* was identified by its macroscopic and microscopic characteristics. The different varieties were identified by means of the L-canavanin-glycin-bromothimol blue medium. We were able to identify 42 isolates as *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* and 3 isolates as *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*.

**KEYWORDS:** *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. Cerebrospinal fluid. AIDS.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFIAS

1. Bava AJ, Negroni R. Características epidemiológicas de 105 casos de criptococose diagnosticados em la República Argentina entre 1981-1990. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 34: 335-340, 1992.
2. Christensen W.B. Urea decomposition as a means of differentiating Proteus and Paracolon cultures from each other and from salmonella and shigella types. *J. Bacteriol.*, 52: 461-466, 1946.
3. Dupont B, Graybill JR, Armstrong, D, Laroche R, Touzé JE, Wheat LJ. Fungal infections in AIDS patients. *J. Med. Vet. Mycol.*, 30:19-28, 1992.
4. Ellis DH, Pfeiffer TJ. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. *J. Clin. Microbiol.*, 28: 1642-1644, 1990.
5. Horsburg CR Jr, Selik RM. *Extrapulmonary cryptococosis (CC) in AIDS patients: risk factors and association with decreased survival* (Abstract nº 564). In Program and Abstract of the 28th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Los Angeles). Washington DC: American Society for Microbiology, 1988.

6. Kovacs JA, Kovacs AA, Polis M. Criptococose in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann. Intern. Med.*, 103: 533-538, 1985.
7. Kwon-Chung KJ, Polacheck I, Bennet JE. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotype B and C). *J. Clin. Microbiol.*, 115:535-537, 1982.
8. Kwon-Chung KJ, & Bennet JE. Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. *Am. J. Epidemiol.*, 120: 123-130, 1984.
9. Mitchell DH, Sorrell TC, Allworth AM, Heath HC, McGregor AR, Papanoum K., Richards MJ., and Gottlieb T. Criptococcal disease of the CNS in immunocompetent hosts: influence of criptococcal variety on clinical manifestations and outcome. *Clin. Infect. Dis.*, 20:611-616, 1995.
10. Pinner RW, Hajjeh RA, Powderly WG. Prospects for preventing cryptococcosis in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.*, 21:103-107, 1995.
11. Rinaldi MG, Drutz DJ, Howell A., Sande MA., Wofsy CB., Hadley, WK. Serotypes of *C. neoformans* in patients with AIDS. *J. Infect. Dis.*, 153: 642, 1986.
12. Rozembaum R, Feijó P, Carvalho A, Peixoto CA, Assis TL, Nogueira AS, Rios-Gonçalves AJ. Associação de criptococose e histoplasmose em pacientes portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida. *Arq. Bras. Med.*, 63: 443-445, 1989.
13. Rozembaum R, Rios Gonçalves AJ., Wanke B., Caiuby MJ., Clemente H., Lazera MS., Monteiro PC., Londero AT. *Cryptococcus neoformans* varieties as agents of criptococose in Brazil. *Arq. Bras. Med.*, 66: 261-263, 1992.
14. Shields, A. Medium for selective isolation of *Cryptococcus neoformans*. *Science*, 151:208-209, 1966.
15. Sugar AM. Overview: Cryptococcosis in the patients with AIDS. *Mycopathologia*, 114: 153-157, 1991.
16. Taborda A, Negroni R, Arechavela A, & Robles AM. Criptococose asociada al SIDA. Estudio retrospectivo de tres terapéuticas antifúngicas en 43 casos. *R. Iberoam. Micol.*, 10: 10-13, 1993.
17. Zepa R, Huicho L, Guillén A. Modified India preparation for *Cryptococcus neoformans* in cerebrospinal fluid specimens. *J. Clin. Microbiol.*, 34: 2290-2291, 1996.